

## **PENGARUH EKSTRAK DAUN DEWA (*GYNURA DIVARICATA*) TERHADAP KADAR UREUM DAN KREATININ : STUDI EKSPERIMENTAL PADA TIKUS MODEL KANKER PAYUDARA**

Indi Swastyastika<sup>1</sup>, Amallia N. Setyawati<sup>2</sup>, Dwi Ngestiningsih<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

<sup>2</sup>Staf Pengajar Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang -Semarang 50275, Telp. 02476928010

### **ABSTRAK**

**Latar Belakang :** Angka penggunaan tanaman obat sebagai pilihan terapi cukup tinggi, salah satunya terapi kanker payudara. Tanaman herbal yang dipercaya dapat digunakan dalam terapi kanker payudara adalah daun dewa (*Gynura divaricata*). Ginjal memegang peranan penting dalam proses ekskresi obat. Kadar ureum dan kreatinin dalam darah dapat digunakan sebagai parameter pemeriksaan fungsi ginjal. Belum terdapat penelitian mengenai pengaruh pemakaian daun dewa terhadap fungsi ginjal.

**Tujuan :** Membuktikan pengaruh ekstrak daun dewa terhadap kadar ureum dan kreatinin pada tikus model kanker payudara.

**Metode Penelitian :** Eksperimental *Post Test Only Control Group Design*. Sampel 15 tikus Sprague Dawley betina yang dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok kontrol negatif (K1) merupakan tikus normal dan kontrol positif (K2) merupakan tikus model kanker payudara yang mendapat pakan dan minum *ad libitum*, perlakuan (P) merupakan tikus model kanker payudara yang mendapat pakan *ad libitum* dan ekstrak daun dewa sebanyak 750 mg/kgBB selama 14 hari. Setelah 14 hari darah diambil dan dilakukan pemeriksaan kadar ureum dan kreatinin.

**Hasil :** Rata-rata kadar ureum K1 54,02, K2 43,06, dan P 33,98. Melalui uji ANOVA diketahui terdapat perbedaan yang bermakna ( $p=0,001$ ) namun saat dilanjutkan dengan *Post hoc* Bonferroni, tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol positif dan perlakuan. Rata-rata kadar kreatinin K1 0,44, K2 0,55, dan P 0,42. Karena sebaran data tidak normal dilakukan uji *Kruskal-Wallis* namun tidak terdapat perbedaan yang bermakna ( $p=0,08$ ).

**Kesimpulan :** Pemberian ekstrak daun dewa belum terbukti mampu menurunkan kadar ureum kreatinin pada tikus model kanker payudara.

**Kata kunci :** *Gynura divaricata*, kanker payudara, kadar ureum, kadar kreatinin

### **ABSTRAK**

## **THE EFFECTS OF DEWA LEAVES (*GYNURA DIVARICATA*) EXTRACT ON UREA AND CREATININE LEVELS : EXPERIMENTAL STUDY IN RATS WITH BREAST CANCER**

**Background :** The use of herbs as medicine is quite high including for breast cancer therapy. One of the herbs which is used for breast cancer treatment is dewa leaves (*Gynura divaricata*). Kidney has important roles in excreting drugs. Blood ureum and creatinine can be used as parameters of kidney function. There is still no literature about effects of *Gynura divaricata* on kidney.

**Aim** : To determine effects of dewa leaves extract on ureum and creatinine in breast cancer model rat

**Methods** : Experimental study Post Test Only Control Group Design. Fifteen female Sprague Dawley rats were divided into three groups. Those are negative control (K1) which consisted of normal rats, positive control (K2) which consisted of breast cancer model rats, and treatment group (P) which consisted of breast cancer model rats receiving 750 mg/kgBW/day dewa leaves extract for 14 days. After 14 days, blood was taken to check ureum and creatinine level.

**Results** : The mean of ureum level were 54,02 for K1; 43,06 for K2; and 33,98 for P. One way ANOVA analysis showed significant differences ( $p=0,001$ ). Post hoc Bonferroni analysis show insignificant differences between K2 and P. Creatinine level mean were 0,44 for K1; 0,55 for K2; and 0,42 for P. Kruskal-Wallis analysis showed non significant differences ( $p=0,08$ ).

**Conclusions** : Dewa leaves extract has not been proven to affect ureum and creatinine level in breast cancer model rats.

**Keyword** : *Gynura divaricata*, breast cancer, ureum level, creatinine level

## PENDAHULUAN

Kanker payudara merupakan pertumbuhan tumor ganas yang dimulai dari jaringan payudara.<sup>1</sup> Menurut data dari riset kesehatan dasar (riskesdas) tahun 2013, kanker payudara menjadi penyakit dengan prevalensi tertinggi kedua di Indonesia, dengan estimasi jumlah absolut 61.682.<sup>2</sup> Beberapa terapi kanker payudara yang digunakan saat ini antara lain pembedahan, radioterapi, kemoterapi, sitostatika, terapi hormonal, terapi biologis, hingga penggunaan obat herbal.<sup>1</sup> Obat herbal yang bernilai terapi untuk kanker payudara harus memiliki komponen flavonoid, asam fenolik, dan terpenoid sehingga mampu menginduksi apoptosis pada sel tumor serta berperan sebagai *immunomodulator*.<sup>3,4</sup> Salah satu tanaman yang mengandung asam fenolik, terpenoid dan flavonoid sehingga dapat digunakan dalam pengobatan kanker adalah daun *Gynura divaricata* atau yang lebih dikenal dengan daun dewa.<sup>5</sup>

Obat herbal terbagi menjadi dua, ada yang teregulasi dengan baik dan ada yang belum teregulasi dengan baik. Obat yang belum teregulasi dengan baik belum memiliki pedoman dosis dan cara penggunaan. Padahal banyak efek samping yang dapat terjadi oleh karena pemakaian yang tidak sesuai standar.<sup>6,7</sup> Daun dewa telah banyak digunakan oleh masyarakat, namun belum ada standar mengenai dosis penggunaan serta belum terdapat penelitian yang meninjau efek samping penggunaannya terhadap fungsi organ tubuh.

Sebagai salah satu organ yang berperan penting dalam proses ekskresi obat, penggunaan obat yang kurang tepat dapat membahayakan ginjal.<sup>8,9</sup> Untuk mengevaluasi seberapa baik fungsi ginjal, dapat dilakukan pemeriksaan terhadap beberapa parameter antara lain kadar ureum dan kreatinin dalam darah. Secara normal, ureum dan kreatinin dapat ditemukan dalam darah, namun kadarnya dapat meningkat apabila terjadi penurunan fungsi ginjal.<sup>10</sup>

## METODE

Penelitian eksperimental dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design* ini dilakukan di LPPT UGM Yogyakarta, Laboratorium Kimia FK Undip dan Laboratorium Biologi FSM Undip selama Februari hingga Mei 2016. Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 tikus Sprague Dawley betina sehat dan 10 tikus model kanker payudara. Subjek penelitian kemudian dibagi menjadi tiga kelompok secara acak menggunakan metode *random sampling*. Kelompok pertama sebagai kontrol negatif terdiri dari 5 ekor tikus Sprague dawley normal. Kelompok kedua dan ketiga sebagai kontrol positif dan perlakuan masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus model kanker payudara

Besar sampel dalam penelitian ini sebanyak 15 ekor, dengan kriteria inklusi: a) Tikus Sprague Dawley betina normal dan tikus model kanker payudara, b) umur 13-17 minggu, c) Tidak ada kelainan anatomis yang tampak dan kriteria eksklusi: tidak ditemukan adanya benjolan setelah di induksi serta kriteria *drop out*: tikus mati. Variabel bebas adalah ekstrak etanol daun dewa sebanyak 750 mg/kgBB/hari. Variabel terikat adalah kadar ureum dan kreatinin darah. Kadar ureum diukur menggunakan metode “Urease-GLDH” sedangkan kadar kreatinin diukur menggunakan metode “Jaffe”.

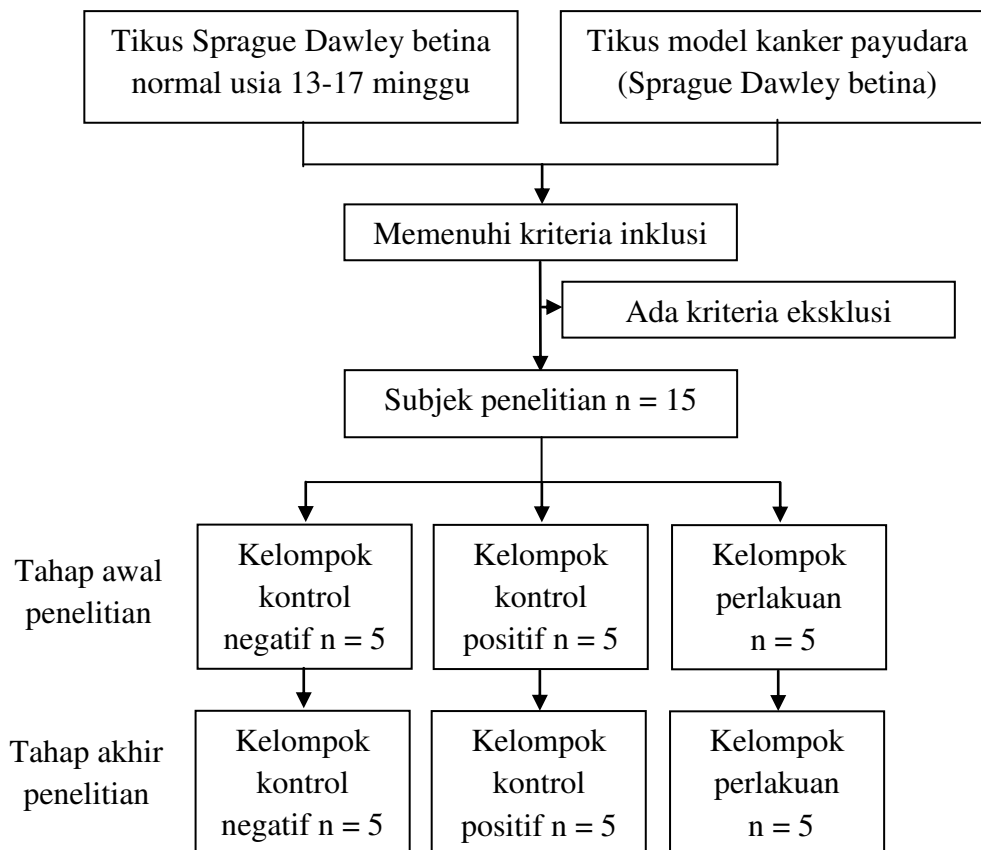
## Intervensi

Setelah muncul benjolan pada tikus model kanker payudara, dilakukan aklimatisasi terlebih dahulu selama 1 minggu. Kelompok kontrol negatif (K1) mendapatkan pakan dan minum *ad libitum*, kelompok kontrol positif (K2) mendapatkan pakan dan minum *ad libitum* serta PEG 1,25%, kelompok perlakuan (P) mendapatkan pakan dan minum *ad libitum* dan ekstrak etanol daun dewa sebanyak 700 mg/kgBB/hari yang telah dilarutkan dalam PEG 1,25%. Setelah 14 hari darah diambil melalui vena retroorbita sebanyak 1 ml dan dilakukan pemeriksaan kadar ureum dan kreatinin. Data yang diperoleh adalah data primer, yaitu data diambil langsung oleh peneliti.

## HASIL

### Analisis Sampel

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan Mei 2016 terhadap subjek yang memenuhi kriteria penelitian. Alur pengambilan subjek yang dilibatkan dalam penelitian dapat dilihat pada diagram berikut.



**Gambar 1.** Diagram jumlah subjek yang digunakan dalam penelitian

### Analisis Data Kadar Ureum

Setelah dilakukan uji normalitas, ditemukan bahwa data kadar ureum berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ). Selanjutnya dilakukan uji hipotesis menggunakan uji statistik parametrik *One way ANOVA* untuk melihat perbedaan kadar ureum darah antar kelompok kontrol dan perlakuan.

**Tabel 1.** Hasil uji *One way ANOVA* kadar ureum darah

	Kelompok	N	Rerata (s.b) mg/dl	Nilai p
Kadar Ureum	Kontrol Negatif	5	54,02(5,01)	,001
	Kontrol Positif	5	43,06(8,27)	
	Perlakuan	5	33,98(3,28)	

Dilihat dari nilai kemaknaannya, perbedaan kadar ureum antar kelompok memiliki nilai  $p < 0,05$  atau bermakna. Untuk mengetahui perbedaan antar dua kelompok, dilakukan tes *post hoc* Bonferonni.

Rerata kadar ureum darah kelompok kontrol negatif ( $mean = 54,02$  mg/dl) menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol positif dan secara statistik terdapat perbedaan yang signifikan ( $p = 0,037$ ). Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun *Gynura divaricata* ( $mean = 33,98$  mg/dl) menunjukkan kadar ureum yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol negatif dan secara statistik terlihat perbedaan yang signifikan ( $p = 0,01$ ). Meskipun terlihat perbedaan rerata pada kontrol positif dan perlakuan, namun secara statistik tidak terdapat perbedaan signifikan antara kedua kelompok ( $p = 0,094$ ).

### Analisis Data Kadar Kreatinin

Setelah dilakukan uji normalitas, ditemukan bahwa data kadar kreatinin berdistribusi tidak normal ( $p < 0,05$ ). Selanjutnya dilakukan uji hipotesis menggunakan uji statistik non-parametrik *Kruskal-Wallis* untuk melihat perbedaan kadar kreatinin darah antar kelompok kontrol dan perlakuan.

**Tabel 2.** Hasil uji *Kruskal-Wallis* kadar kreatinin darah

Kelompok	n	Kadar kreatinin mg/dl	Nilai p
Kontrol Negatif	5	0,42 (0,34-0,54)	,080
Kontrol Positif	5	0,49 (0,49-0,72)	
Perlakuan	5	0,41 (0,35-0,49)	

Dilihat dari nilai kemaknaannya, perbedaan kadar kreatinin antar kelompok memiliki nilai  $p > 0,05$  atau tidak bermakna. Dari nilai tersebut dapat disimpulkan tidak terdapat perbedaan bermakna kadar kreatinin darah pada kelompok kontrol maupun perlakuan.

## PEMBAHASAN

Peningkatan kadar ureum dalam darah dapat menunjukkan adanya disfungsi ginjal, meskipun dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor. Menurut penelitian terdahulu, peningkatan abnormal kadar kreatinin dalam darah merupakan indikator yang lebih spesifik dan sensitif pada gangguan ginjal.<sup>11</sup>

Berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium, temuan kadar ureum kelompok kontrol negatif (K1) lebih tinggi daripada kelompok kontrol positif (K2) menunjukkan hasil yang berbeda dengan hipotesis. Menurut penelitian sebelumnya, pemberian dosis tunggal DMBA sebanyak 50 mg/kgBB dapat memicu gangguan ginjal sehingga kadar ureum dapat meningkat sebanyak 15,38% pada minggu keempat.<sup>12</sup> Hal ini berbeda dengan penelitian ini dimana penginduksian tikus kanker dilakukan dengan pemberian DMBA dalam minyak jagung dengan dosis 20 mg/kgBB peroral sebanyak sepuluh kali, yaitu seminggu dua kali selama lima minggu pada umur 1,5 bulan.<sup>13</sup>

Rerata kadar ureum tikus model kanker payudara yang lebih rendah dibandingkan tikus normal dapat disebabkan oleh karena beberapa hal. Kemungkinan pertama apabila ginjal masih dapat berfungsi dengan baik sehingga ureum masih mampu diekskresi melalui ginjal secara maksimal. Selain itu kadar ureum dalam darah dapat dipengaruhi oleh banyak faktor, misalnya dapat menurun pada kondisi *liver failure*, asupan protein kurang, malnutrisi, dan overhidrasi.<sup>14</sup>

Pengambilan sampel kontrol negatif dilakukan setelah penginduksian pada tikus model selesai dilakukan (5 minggu setelah induksi pertama pada tikus usia 1,5 bulan) dengan asumsi manifestasi kanker, seperti benjolan, dapat segera muncul. Benjolan baru muncul 3-4 bulan kemudian sehingga terdapat perbedaan usia pada saat pengambilan darah antara tikus kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif. Hal ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang menyatakan terdapat perbedaan kadar ureum pada tikus dimana tikus dengan usia kurang dari enam bulan memiliki kadar ureum darah yang lebih tinggi dibandingkan tikus yang berusia lebih dari enam bulan.<sup>15</sup>

Pemberian PEG pada kelompok kontrol positif dilakukan untuk memperkecil kemungkinan pengaruh pelarut yang lebih dominan dibandingkan dengan ekstrak etanol daun dewa. PEG dipilih sebagai pelarut dalam penelitian ini karena mampu melarutkan ekstrak etanol daun dewa dengan baik dibandingkan dengan pelarut lainnya. Menurut penelitian

sebelumnya pemberian PEG baik dalam jangka pendek maupun jangka waktu yang lama dengan berbagai jalur pemberian tidak memicu terjadinya toksisitas utama apapun. Sehingga dapat dikatakan PEG memiliki profil toksikologi yang sangat rendah pada hewan coba.<sup>16,17</sup>

Kelompok perlakuan yang mendapatkan ekstrak daun dewa (P) memiliki rerata kadar ureum lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol positif (K2). Namun secara statistik tidak terdapat perbedaan yang signifikan ( $p = 0,094$ ). Hal ini menunjukkan pemberian ekstrak daun dewa tidak terbukti mampu menurunkan kadar ureum darah.

Kadar kreatinin kelompok kontrol positif (K2) yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif (K2) sejalan dengan hipotesis. Kadar kreatinin tikus kontrol positif yang lebih tinggi dibandingkan kontrol negatif pada percobaan ini dapat dikaitkan dengan penggunaan DMBA yang secara teori dapat memicu gangguan ginjal. Selain itu pada keganasan terjadi hiperkatabolisme, yang dapat didefinisikan sebagai pemecahan metabolit secara berlebihan. Selama proses inflamasi, terjadi pemecahan protein secara berlebihan akibat aksi dari sitokin pro-inflamasi.<sup>19,20</sup>

Kelompok perlakuan yang mendapatkan ekstrak daun dewa (P) memiliki kadar kreatinin yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol positif (K2). Secara statistik hasil kadar kreatinin darah tikus model kanker payudara kelompok perlakuan (P) yang diberikan ekstrak etanol daun dewa (*Gynura divaricata*) menunjukkan perbedaan kadar kreatinin yang tidak signifikan ( $p = 0,08$ ). Hal ini menunjukkan pemberian ekstrak daun dewa tidak mempengaruhi kadar kreatinin darah.

Hal ini kurang lebih sama dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol daun *Gynura procumbens*, yang masih satu genus dengan *Gynura divaricata* sebanyak 250, 500, dan 1000 mg/kgBB/hari selama 28 hari tidak mengganggu fungsi ginjal dan hepar.<sup>21</sup> Penelitian lain yang menggunakan ekstrak metanol daun *Gynura bicolor* sebanyak 300, 2000, dan 5000 mg/kgBB/hari selama 14 hari pada tikus Sprague Dawley jantan juga tidak menunjukkan reaksi toksisitas akut.<sup>22</sup>

Secara klinis, hasil ureum maupun kreatinin yang lebih baik pada pemberian ekstrak dapat dihubungkan dengan penelitian terdahulu pada spesies lain, *Gynura procumbens*. Studi sebelumnya menunjukkan ekstrak air *Gynura procumbens* dapat menghambat proliferasi, sintesis DNA, ekspresi dan PDGF-BB, CDK1, dan CDK2 mRNA, dan ekspresi protein TGF- $\beta$ 1 pada *human mesangial cell*. Kemampuan inhibisi dari *G. procumbens* pada proliferasi sel



mesangial dimediasi oleh supresi dari PDGF-BB dan ekspresi TGF- $\beta$ 1 serta modulasi dari ekspresi CDK1 dan CDK2. Sehingga dapat dikatakan *Gynura procumbens* memiliki kemampuan protektif terhadap ginjal terutama dalam mencegah penyakit ginjal progresif.<sup>23</sup>

Beberapa keterbatasan dalam penelitian ini adalah teknik induksi kanker secara peroral dengan DMBA yang dilakukan membuat waktu munculnya kanker pada tiap tikus tidak bersamaan sehingga usia tikus saat diberi perlakuan tidak sama dan derajat keparahan kanker pada tiap tikus tidak sama. Selanjutnya penelitian tidak dilakukan menggunakan rancangan *pre and post test* sehingga kadar ureum maupun kreatinin tiap kelompok dapat berbeda tergantung karakteristik individu masing-masing. Uji kandungan ekstrak tidak dapat dilakukan karena reagen yang diperlukan untuk pemeriksaan habis. Selain itu tidak dilakukannya pemeriksaan histopatologi ginjal untuk menilai gambaran mikroskopis.

## **SIMPULAN DAN SARAN**

### **Simpulan**

Pada penelitian ini tidak terdapat perbedaan bermakna antara kadar ureum dan kreatinin tikus model kanker payudara yang diberikan ekstrak etanol daun dewa (*Gynura divaricata*).

### **Saran**

Saran untuk penelitian selanjutnya ialah menggunakan rancangan *pre and post test*, melakukan uji kandungan ekstrak (fitokimia), perlunya teknik induksi kanker yang lebih tepat, perlu dilakukan penelitian serupa menggunakan dosis bertingkat, perlunya pemeriksaan PA ginjal tikus, serta diharapkan terlaksananya penelitian yang lebih mendalam mengenai efek samping pada organ lain, interval penggunaan, indikasi lain, kontraindikasi, dan interaksi ekstrak dengan obat lain.

## **DAFTAR PUSTAKA**

1. Cancer Facts & Figures 2015 [Internet]. Atlanta: American Cancer Society; 2015 [cited 2015 Dec 3]. Available from: <http://www.cancer.org>.
2. Riset Kesehatan Dasar 2013 [Internet]. Jakarta: Riset Kesehatan Dasar; 2013 [cited 2015 Dec 10]. Available from: <http://www.depkes.go.id>.



3. Mukhtar E, Adhami VM, Khan N, Mukhtar H. Apoptosis and autophagy induction as mechanism of cancer prevention by naturally occurring dietary agents. *Curr Drug Targets* [Internet]. 2012 [cited 2015 Dec 7]; 13(14):1831-1841. Available from: PubMed Central.
4. Kampa M, Alexaki VI, Notas G, Nifli AP, Nistikaki A, Hatzoglou A, et al. Antiproliferative and apoptotic effects of selective phenolic acids on T47D human breast cancer cells: potential mechanisms of action. *Breast Cancer Res* [Internet]. 2004 [cited 2015 Dec 11]; 6(2):R63-R74. Available from: PubMed Central.
5. Chen L, Wang JJ, Song HT, Zhang GG, Qin LP. New cytotoxic cerebroside from *Gynura divaricata*. *Chinese Chem Lett* [Internet]. 2009 [cited 2015 Dec 10]; 20(9):1091-1093. Available from: Researchgate.
6. Huang J, Mao Y, Millis JM. Traditional Chinese Medicine. *Lancet* [Internet]. 2008 [cited 2015 Dec 10]; 372(1325):30. Available from: The Lancet.
7. Bent S. Herbal Medicine in the United States: Review of Efficacy, Safety, and Regulation. *J Gen Intern Med*. 2008;23(6):854-859
8. Setiawati A, Suyatna F, Gan S. Pengantar Farmakologi. In: Gunawan GS, Setiabudy R, Nafrialdi, Elysabeth, eds. *Farmakologi Dan Terapi*. 5th ed. Jakarta: Badan Penerbit FKUI; 2007:11.
9. Choudhury D, Ahmed Z. Drug-associated renal dysfunction and injury. *Nat Clin Pract Nephrol* [Internet]. 2006 [cited 2015 Dec 10]; 2(2):80-91. Available from: PubMed Central.
10. McPherson RA, Pincus MR. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods* [Internet]. Elsevier Health Sciences; 2011 [cited 2015 Dec 10]. Available from: Google Books.
11. Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, L KD. *Harrison Prinsip-Prinsip Ilmu Penyakit Dalam*. 13th ed. (Asdie AH, ed.). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2013.
12. Ozdemir I, Selamoglu Z, Ates B, Gok Y, Yilmaz I. Modulation of DMBA-induced biochemical changes by organoselenium compounds in blood of rats. *Indian J Biochem Biophys*. 2007;44:257-259.
13. Meiyanto E, Susilowati S, Tasminatun S, Murwanti R, Sugiyanto. Efek kemopreventif ekstrak etanolik *Gynura procumbens* ( Lour ), Merr pada karsinogenesis kanker payudara tikus. *Maj Farm Indones* [Internet]. 2007 [cited 2015 Dec 10]; 18(3). Available from: <http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/wp-content/uploads/chemopreventive-effect-of-ethanolic-extract-of-gynura.pdf>
14. Wood DM, Sedefov R, Cunningham A, Dargan PI. Prevalence of use and acute toxicity associated with the use of NBOMe drugs. *Clin Toxicol (Phila)* [Internet]. 2015 [cited 2015 Dec 10]; 53(2):85-92. Available from: PubMed Central.
15. Aleman C, Mas R, Rodeiro I, et al. Reference database of the main physiological parameters in Sprague-Dawley rats from 6 to 32 months. *J Lab Anim*. 1998;32:457-466.

16. Caliceti P, Veronese FM. Pharmacokinetic and biodistribution properties of poly(ethylene glycol)–protein conjugates. *Adv Drug Deliv Rev.* 2003;55:1261-1272.
17. Webster R, Didier E, Harris P, Siegel N, Stadler J, Tilbury L, *et al.* PEGylated Proteins: Evaluation of Their Safety in the Absence of Definitive Metabolism Studies. *Drug Metab Dispos.* 2007;35(1):9-16.
18. Paliwar R, Sharma V, Pracheta, Sharma S, Yadav S, Sharma S. Anti-nephrotoxic effect of administration of *Moringa oleifera* Lam in amelioration of DMBA-induced renal carcinogenesis in Swiss albino mice. *Biol Med.* 2011;3(2):27-35.
19. Santarpia L, Contaldo F, Pasanisi F. Nutritional Screening and Early Treatment of malnutrition in cancer patient. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2011;2:27-35.
20. Fearon KC, Glass DJ, Guttridge DC. Cancer Cachexia: Mediators, Signaling, and Metabolic Pathways. *Cell Metab.* 2012;16:153-166.
21. Algariri K, Atangwho IJ, Meng KY, Asmawi MZ, Sadikun A, Murugaiyah V. Antihyperglycaemic and Toxicological Evaluations of Extract and Fractions of *Gynura procumbens* Leaves. *Trop life Sci Res [Internet].* 2014 [cited 2015 Dec 20]; 25(1):75-93. Available from: PubMed Central.
22. Teoh WY, Sim KS, Richardson JSM, Wahab NA, Hoe SZ. Antioxidant Capacity, Cytotoxicity, and Acute Oral Toxicity of *Gynura bicolor*. *Evidence-Based Complement Altern Med.* 2013:1-10.
23. Lee H, Lee B, Chung J, Wiryowidagdo S, Chun W, Kim S, *et al.* Inhibitory Effects of an Aqueous Extract of *Gynura procumbens* on Human Mesangial Cell Proliferation. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2007;11(4):145-148.

